

固相微萃取气质联用分析新疆雪菊的挥发性成分

钱宗耀, 安冉, 华震宇, 李静, 王成*

(新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量安全
风险评估实验室, 乌鲁木齐 830091)

[摘要] **目的:**建立新疆雪菊挥发性成分的分析方法, 鉴定其化学成分。**方法:**利用顶空固相微萃取技术(HS-SPME)吸附新疆雪菊中的挥发性成分。**方法:**色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析鉴定, 并用峰面积进行归一化定量。**结果:**从雪菊中共分离出54个峰, 鉴定出其中的47种化学成分, 占总峰面积的95.88%。雪菊中主要挥发性成分为3-蒎烯、1,3,8-对-薄荷三烯、 α -柠檬烯、马鞭草烯醇、香芹酮等。**结论:**建立的方法分离度好, 准确、可靠, 为新疆雪菊挥发性成分的研究提供了分析方法。

[关键词] 固相微萃取; 气相色谱-质谱联用; 雪菊; 挥发性成分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)07-0082-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070082

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000021.html>

[网络出版时间] 2014-01-21 9:22

Analysis of Volatile Compounds from *Coriopsis tictoria* with Solid Phase Microextraction by GC-MS

QIAN Zong-yao, AN Ran, HUA Zhen-yu, LI Jing, WANG Cheng*

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Products (Urumqi), Ministry of Agriculture, Urumqi 830091, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the volatile compounds in *Coriopsis tictoria*. **Method:** Volatile compounds from *C. tictoria* were isolated by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and identified and quantified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A quantitative analysis in percent was performed by peak area normalization measurements. Fifty-four peaks in *C. tictoria* were detected respectively. Species of chemical components were identified by GC-MS. **Result:** The content of the identified compounds extracted from *C. tictoria* was 95.88% of the total volatile substances, 3-carene, 1, 3, 8-*p*-menthatriene, *D*-limonene, verbenol, carvone were the most abundant volatile compounds released from *C. tictoria*. **Conclusion:** The method is simple, rapid and sensitive, which could be used for determination of volatile compounds in *C. tictoria*.

[Key words] solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; *Coriopsis tictoria*; volatile compound

新疆雪菊学名两色金鸡菊, 是菊科金鸡菊属一年生草本植物的干燥头状花序, 在新疆主要分布于

[收稿日期] 20130729(016)

[基金项目] 新疆农科院农产品质量安全重点实验室建设项目(xjnkkl-2013-003)

[第一作者] 钱宗耀, 硕士, 实验师, 从事色谱-质谱分析研究, Tel:13669937098, E-mail:qianzongyao@aliyun.com

[通讯作者] *王成, 硕士, 研究员, 从事农产品质量安全及风险评估研究, Tel:0991-4558195, E-mail:wangcheng312@sina.com

田地区海拔高 3 000 米左右的昆仑山区,有较丰富的野生资源。长期以来,新疆雪菊在民间应用较为广泛,被当地居民当花茶饮用,新疆维吾尔医院也作为一种维药材应用,具有清热解毒、活血化瘀、和胃健脾之功,用花泡茶饮,可治疗燥热烦渴、高血压、心慌、胃肠不适、食欲不振、痢疾及疮疖肿毒,有非常好的民间应用基础与开发前景。

固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)自 1990 年 Pawliszyn^[1]首次提出以后,已广泛应用于中草药的有效成分分析。目前对于雪菊化学成分的研究^[2]已有相关报道,主要是黄酮类化合物分离纯化的研究;总多糖、总皂苷、总黄酮^[3-9]的定量研究以及采用气质联用法对雪菊中的脂肪酸进行研究^[10]。本实验采用固相微萃取技术提取雪菊中的挥发性成分,用气相色谱质谱联用仪分析,通过 NIST 质谱库提供的检索功能,鉴定雪菊中挥发性化合物的成分及相对百分含量。

1 材料

Clarus500 型气相色谱-质谱联用仪(Perkin Elmer 珀金埃尔默),分析天平(Mettler-Toledo 梅特勒-托利多);固相微萃取装置、聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB 65 μm)固相微萃取头(美国 SUPELCO 公司)

试验材料采自新疆昆仑山山区,经石河子大学闫平教授鉴定为菊科金鸡菊属植物 *Coriopsis tiontaria* Nutt.

HP-5MS 色谱柱(0.25 mm \times 30 m, 0.5 μm),载气高纯氦气(99.999%),流速 1.0 mL \cdot min⁻¹;初始状态不分流,进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,程序升温 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min,以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 10 min,

离子化方式电子轰击(EI),离子化能量 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,传输线温度 270 $^{\circ}\text{C}$,溶剂延迟 0 min,扫描范围(m/z) 50 ~ 400,检测方式全离子扫描(SCAN),定量方式,面积归一化法。

2 方法

将固相微萃取头插入气相色谱质谱联用仪的进样口中,推出纤维头于 250 $^{\circ}\text{C}$ 老化 40 min。同时将雪菊样品研磨成粉状,称取约 1 g 的样品置于 5 mL 的样品瓶中,加入约 3 mL 的沸水并用硅橡胶垫瓶盖密封,震荡后将样品瓶放入约 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中。将老化后的固相微萃取纤维头按操作规程插入样品瓶中,顶空萃取 30 min,抽回萃取头并拔出固相微萃取装置,迅速插入仪器的进样口,在 250 $^{\circ}\text{C}$ 热解析 3 min 后启动仪器采集数据。

用上述条件对新疆雪菊挥发性成分进行分析,采集的总离子流图见图 1。

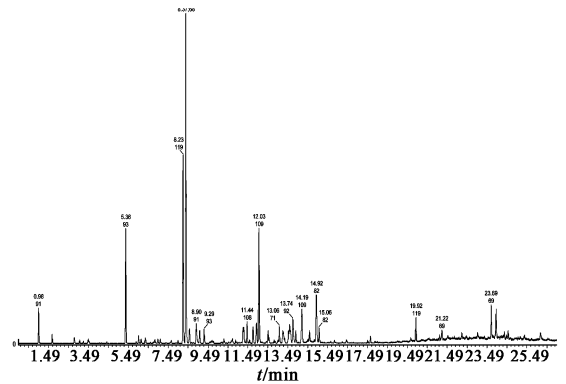


图 1 新疆雪菊挥发性成分总离子流

所得到的质谱图利用 NIST 谱库检索进行定性,按照峰面积归一化法测定组分的相对含量,结果列于表 1。

表 1 新疆雪菊中挥发性成分鉴定

No.	t_R/min	化合物	相对百分含量/%	分子式
1	0.98	甲苯 toluene	1.98	C_7H_8
2	1.67	正己醛 hexanal	0.55	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$
3	2.79	1,3,5-norcaratriene	0.40	C_7H_6
4	3.04	2-己烯醛 2-hexenal	0.22	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$
5	3.23	乙苯 ethylbenzene	0.09	C_8H_{10}
6	3.48	邻二甲苯 o-xylene	0.28	C_8H_{10}
7	5.36	3-蒎烯 3-carene	6.94	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$
8	6.00	丁苯 n-butylbenzene	0.63	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$
9	6.13	反式-2-庚醛 (E)-2-heptenal	0.32	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}$
10	6.34	苯甲醛 benzaldehyde	0.44	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$
11	6.97	甲基庚烯酮 6-methyl-5-hepten-2-one	0.29	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}$
12	7.08	β -香叶烯 β -myrcene	0.36	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$

续表 1

No.	t_R /min	化合物	相对百分含量/%	分子式
13	7.64	α -水芹烯 α -phellandrene	0.19	C ₁₀ H ₁₆
14	7.98	3-甲基-6-亚乙基环己烯 cyclohexene, -methyl-6-(1-methylethylidene)-	0.17	C ₁₀ H ₁₆
15	8.23	1,3,8-对-薄荷三烯 1,3,8- <i>p</i> -menthatriene	12.90	C ₁₀ H ₁₄
16	8.37	α -柠檬烯 <i>D</i> -limonene	25.26	C ₁₀ H ₁₆
17	8.55	反式 β -罗勒烯 trans- β -ocimene	1.01	C ₁₀ H ₁₆
18	8.90	苯乙醛 benzeneacetaldehyde	1.54	C ₈ H ₈ O
19	9.06	α -蒎烯 α -pinene	0.86	C ₁₀ H ₁₆
20	9.29	γ -松油烯 γ -terpinene	1.11	C ₁₀ H ₁₆
21	10.72	3,4,4-三甲基-2-环戊烯-1-酮 2-cyclopenten-1-one, 3,4,4-trimethyl-	0.49	C ₈ H ₁₂ O
22	10.27	(3-环己烯-1-基)-2,2-二甲基-1-丙酮 1-propanone, 1-(3-cyclohexen-1-yl)-2,2-dimethyl-	0.36	C ₁₁ H ₁₈ O
23	10.44	四氢呋喃 tetrahydrofuran	0.01	C ₄ H ₈ O
24	11.29	3-甲基-6-异丙烯环己烯醇 trans- <i>p</i> -mentha-2,8-dienol	1.08	C ₁₀ H ₁₆ O
25	11.44	龙脑烯醛 α -campholenal	1.57	C ₁₀ H ₁₆ O
26	11.37	二环[3.3.1]-2-烯-9-甲基-9-醇 bicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ol, 9-methyl-	0.01	C ₁₀ H ₁₆ O
27	11.74	氧化柠檬烯 (+)-(<i>E</i>)-limonene oxide	1.25	C ₁₀ H ₁₆ O
28	11.92	马鞭草烯醇 verbenol	1.70	C ₁₀ H ₁₆ O
29	12.03	(<i>S</i>)-顺马鞭草烯醇 cis-verbenol	9.04	C ₁₀ H ₁₆ O
30	12.56	香芹萜酮 pinocarvone	0.86	C ₁₀ H ₁₄ O
31	13.06	4-萜品醇 terpinen-4-ol	1.26	C ₁₀ H ₁₈ O
32	13.57	环己酮 cyclohexanone	2.34	C ₆ H ₁₀ O
33	13.75	<i>L</i> -香芹醇 carveol	2.29	C ₁₀ H ₁₆ O
34	13.89	马鞭草烯酮 <i>D</i> -verbenone	0.95	C ₁₀ H ₁₄ O
35	14.19	2-甲基-5-(2-丙烯基)-2-环己烯-1-醇 2-cyclohexen-1-ol,2-methyl-5-(1-methylethenyl)-,	3.46	C ₁₀ H ₁₆ O
36	14.92	香芹酮 carvone	4.22	C ₁₀ H ₁₄ O
37	15.06	未知	0.91	-
38	15.82	1-环己烯-1-甲醛 1-cyclohexene-1-carboxaldehyde	0.20	C ₇ H ₁₀ O
39	16.44	百里香酚 thymol	0.31	C ₁₀ H ₁₄ O
40	17.57	香树烯 alloaromadendrene	0.21	C ₁₅ H ₂₄
41	17.64	未知	0.39	-
42	17.80	丁子香酚 eugenol	0.07	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
43	17.94	香橙烯 aromadendrene	0.09	C ₁₅ H ₂₄
44	19.63	γ -榄香烯 γ -elemene	0.32	C ₁₅ H ₂₄
45	19.92	反式- α -香柑油烯 trans- α -bergamotene	1.81	C ₁₅ H ₂₄
46	21.11	未知	0.42	-
47	21.21	β -金合欢烯 cis- β -farnesene	0.93	C ₁₅ H ₂₄
48	22.21	香柠檬醇 bergamotol	0.51	C ₁₅ H ₂₄ O
49	22.43	4,4,7-三甲基-2(4H)-苯并呋喃酮 2(4H)-benzofuranone, 4,4,7a-trimethyl-	0.25	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
50	23.00	未知	0.60	-
51	23.69	环氧石竹烯 caryophyllene oxide	2.57	C ₁₅ H ₂₄ O
52	23.94	丙烯菊酯 bioallethrin	2.46	C ₁₉ H ₂₆ O ₃
53	24.53	未知	0.76	-
54	26.17	未知	0.79	-

3 结果

3.1 固相微萃取条件的选择

3.1.1 萃取头的选择 SPME 的萃取头种类较多, 本次试验选用 PDMS/DVB 65 μm 的萃取头, 其适用

范围是极性挥发性物质、醇、胺等化合物的吸附。

3.1.2 样品用量 样品量的多少直接影响色谱峰的分离效果,与色谱信号的强弱相关,样品量太小,色谱的采集信号强度低,对分析结果较为困难;样品量太大,虽然信号增强,但色谱峰分离度降低,不利于组分的完全分离。实验证明,样品量在 1 g 左右置于 5 mL 的样品瓶中,即可满足优化试验的条件。

3.1.3 萃取温度 萃取温度直接决定样品的萃取效率及萃取头的吸附效果。选用 40, 50, 60, 70, 80 °C 5 个水平来研究萃取温度对萃取效果的影响,比较结果见图 2,雪菊挥发性组分的主要成分响应随着萃取温度的增加而呈正比增加。在 70 ~ 80 °C 变化趋缓,故最佳萃取温度选择 70 °C。

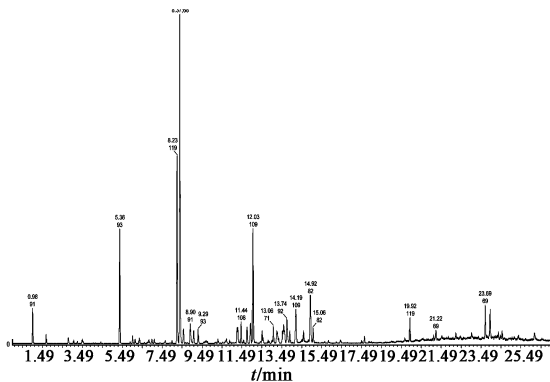


图 2 不同萃取温度的检测结果统计比较

3.1.4 吸附时间 在最佳的萃取温度下对吸附时间进行研究,固相微萃取头达到平衡的时间取决于目标物的浓度和萃取头对其的灵敏度。选用 5, 10, 20, 30, 45 min 5 个时间水平来研究萃取时间对萃取效果的影响,结果见图 3,表明随着萃取时间的增加,色谱信号的响应呈正比增加,在 30 ~ 45 min 已趋于平衡,出于对实验效率的考虑,萃取时间既可以达到较好的萃取效果又可以对样品进行连续的检测,所以萃取时间选择 30 min。

表 2 主要挥发性成分重复测定结果 ($n = 5$)

化合物	RSD/%
3-萜烯	4.32
1,3,8-对-薄荷三烯	3.85
α -柠檬烯	2.56
马鞭草烯醇	3.58
香芹酮	4.26

3.2 重复性试验 在最优化的条件下连续 5 次对雪菊样品进行分析,其中响应信号较高的化合物组分的相对百分含量的变异系数均 $< 5\%$,从表 2 可以说明该方法重复性较好,适用于雪菊挥发性成分的

分析测定。

4 讨论

利用固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术分析挥发性化合物是一种有效方法,通过该方法对新疆雪菊挥发性化学成分进行分析鉴定,操作简便,重复性好,能够客观反映雪菊的主要特征挥发性化合物,其中以萜类最多,达到 80% 左右,萜类化合物是自然界中植物次生代谢产物较多的化合物^[11],柠檬烯是新疆雪菊中的主要挥发性成分,动物实验显示具有良好的镇咳、祛痰、抑菌作用,复方柠檬烯在临床上用于利胆、溶石、促进消化液分泌和排除肠内积气。在后续的工作中结合化学计量学的方法对新疆不同地域的雪菊产品进行分析研究,可为新疆雪菊指纹图谱鉴定提供一定的分析依据,从而可以更加客观地评价不同产地雪菊的品质。

[参考文献]

- [1] Wang C W, Pawliszyn J. Solid-Phase microextraction coupled to capillary electrophoresis [J]. J Anal Commun, 1998, 35:353.
- [2] 兰卫,赵保胜,李玉清. 昆仑雪菊中多种成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 101.
- [3] 王艳,张彦丽,阿依吐伦·斯马义. 分光光度法测定新疆昆仑雪菊中总黄酮的含量[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 34(8): 817.
- [4] 孙自增,毕肯·阿不都克力木,张彦丽. 不同产地雪菊化学成分含量测定及模式识别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 174.
- [5] 张彦丽,阿布都热合曼·合力力,阿依吐伦·斯马义. 苯酚-硫酸法测定维吾尔药昆仑雪菊多糖含量的研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(11): 2205.
- [6] 黎耀东,闫素雅,李晓瑾. 昆仑雪菊的红外光谱产地鉴别[J]. 现代仪器, 2012, 18(6): 71.
- [7] 景玉霞,兰卫. 不同产地昆仑雪菊总黄酮含量测定[J]. 新疆中医药, 2012, 30(5): 62.
- [8] 买买提·艾买提,木合布力·阿布力孜,孟磊. 新疆昆仑雪菊水溶性总黄酮的含量测定[J]. 海峡药学, 2010, 22(10): 56.
- [9] 张燕,李琳琳,木合布力·阿布力孜,等. 新疆昆仑雪菊 5 种提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 166.
- [10] 钱宗耀,周晓龙,刘河疆,等. 气相色谱-质谱联用技术分析两色金鸡菊中的脂肪酸[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(7): 293.
- [11] 王宪楷. 天然药物化学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1988:391.

[责任编辑 蔡仲德]